Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. *A. Schittenhelm*

Über das Weltmannsche Koagulationsband im Vergleich zu anderen Serumeiweißreaktionen wie Takatareaktion, Senkungsgeschwindigkeit und direktes Bilirubin

Zugleich ein Beitrag zum Reaktionsmechanismus

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Robert Logel
aus Schöndorf (Banat)

München 1938

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz A.G., Würzburg

Referent: Professor Dr. *A. Schittenhelm*

Tag der mündlichen Prüfung: 21. Februar 1938

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderdruck aus
„Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin", 106. Band, 1./2. Heft
Verlag von Julius Springer, Berlin

Im Rahmen unserer Studien über Serumeiweißkörper beschäftigten wir uns auch mit den gebräuchlichsten, in der Klinik am besten eingeführten Serumreaktionen. In mehreren Arbeiten (*Dirr* und Mitarbeiter) konnten wir zum Mechanismus der *Takata*-Reaktion (=TR.) weitgehende Aufschlüsse liefern. Durch zahlreiche Versuche stellten wir fest, daß es sich um eine Kolloid-Kolloidreaktion handelt, bedingt durch eine absolute oder relative Vermehrung der Globuline bzw. eine Verschiebung der Globuline nach der gröber dispersen Seite hin. Als Ergebnis der Reaktion zwischen Eiweiß überhaupt und Metallsalz konnten wir nachweisen, daß nur das Kation Hg in das Eiweißmolekül eintritt und nicht, wie vielfach angenommen wurde, das Metallsalz als ganzer Komplex. Durch die normalerweise und auch pathologisch anwesenden Stoffe im Serum wird die TR. nicht beeinflußt, wobei wir aber in Reagensglasversuchen fanden, daß NH_2, Guanidin und ähnliche Gruppen die Tendenz zeigen die Ausflockung zu begünstigen, COOH, S und SH-Gruppen dieselbe zu verhindern. Als weitere wichtige Feststellung fanden wir, daß die Veränderungen nicht bloß in einer Verschiebung der polaren Gruppen bedingt sind, sondern daß sie viel tiefer greifend sind, indem die Bausteinanalyse deutliche Unterschiede zwischen normalem und takatapositivem Serumeiweiß aufwies. Tryptophan ist vermehrt, Cystin vermindert, während Arginin und Tyrosin ungefähr normale Werte ergaben.

Auch die direkte Bilirubinreaktion ist nach unseren Untersuchungen *(Dirr* und *Sereslis)* nichts anderes als ein Ausdruck einer Serumeiweißveränderung, indem normales Serumeiweiß das Bilirubin sehr fest bindet, während bei der direkten Reaktion dieses eine viel geringere Haftfestigkeit aufweist. Wir betrachten diese Reaktion als sehr feines Reagens auf Serumeiweißveränderungen. Auf die Klinik übertragen zeigen uns also sowohl TR. als auch direktes Bilirubin in der Hauptsache Schädigung der Organe an, die mit dem Eiweißumbau zu tun haben, also in erster Linie Schädigung der Leber.

Auch die *Weltmann*sche Reaktion hat sich unter dem Namen *Weltmann*sches Koagulationsband (=KB.) sehr gut in die Klinik eingeführt und bewährt. Sie wurde im Jahr 1930 von *Weltmann* angegeben. In der Hauptsache stellt sie eine Hitzekoagulation unter Zugabe von Calciumchlorid dar.

Schon *Schade* gab 1903 eine Methodik an, die die Hitzekoagulation bei verschiedener Temperatur unter Zusatz physiologischer Kochsalzlösung der Klinik nutzbar machen sollte. Diese Arbeit zog wohl viele Untersuchungen nach sich (*von Höfft, Mayer* und *Rosenow* u. a.), konnte sich aber nicht durchsetzen. Wie gesagt, gelang dies erst *Weltmann*, indem er ein zweiwertiges Kation, nämlich das Calciumchlorid, zugab.

Das Prinzip ist kurz folgendes: In 11 Reagensgläser kommen je 5 ccm verschiedener Verdünnungen von $CaCl_2$, beginnend mit I = 1,0‰, II = 0,9‰, VII½ = 0,35‰, X = 0,1‰. Dazu kommen je 0,1,ccm nichthämolytisches Serum. Die Serumverdünnung ist also 50fach. Dann bringt man die Röhrchen 15 Min. in ein kochendes Wasserbad. Es entstehen Niederschläge, wobei nur diese gewertet werden, dagegen nicht bloße Trübungen. Die Summe der Niederschläge ist das KB. Die Anschreibung ist: Normales KB. = 6R (= 6 Röhrchen), hoch normales KB. = 7R, verbreitertes KB. = 7½ und mehr R., verkürztes KB. = 5 und weniger R. Zum Unterschied von der TR. haben wir also verschiedene Elektrolytkonzentrationen, während das Serum immer in der 50fachen Verdünnung vorliegt, die wir schon nach den früheren Arbeiten als die optimale Verdünnung für die Ausflockung kennenlernten, während bei der TR. die Elektrolytzugabe gleich bleibt und sich die Serumkonzentration ändert.

Schon *Weltmann* und *Medvei* haben sich mit den theoretischen Grundlagen der Reaktion befaßt, sind „aber trotz eifriger Bemühung zu keiner Klarheit gelangt". Sie fanden, daß Serum in 50facher Verdünnung mit destilliertem Wasser normalerweise in der Hitze keine Hitzekoagulation zeigt, sondern daß diese erst eintritt bei vorheriger Zugabe einer bestimmten Menge Calciumchlorid. Läßt man nach dem Erhitzen des Serums wieder erkalten und gibt dann erst Calciumchlorid zu, so tritt die Flockung nicht ein. Ähnlich wie Calcium verhält sich Barium und Magnesium. Eine restlose Aufklärung werden wir erst bekommen, wenn unser Wissen um das Eiweiß weiter fortgeschritten ist. Wenn wir in folgendem den Versuch machen, etwas zum Reaktionsmechanismus des KB. beizutragen, so sind wir uns klar, daß es auch nur theoretische Erörterungen bleiben können, ohne den Anspruch auf absolute Gültigkeit erheben zu können.

Zunächst erhebt sich die Frage, welche Veränderungen das Serumeiweiß beim Anstellen der *Weltmann*schen Reaktion erleidet. Einmal wird das Serum 1:50 verdünnt, dann bis nahe zum Siedepunkt erhitzt, weiterhin ist bei der Reaktion Calciumchlorid beteiligt, und zwar in fallenden Konzentrationen.

Man sollte meinen, daß im Eiweiß durch die 50fache Verdünnung des Serums keine Veränderung des Moleküls eintritt. Die Beobachtungen besonders der letzten Jahre sprechen aber dagegen. Danach ist das

Molekulargewicht der Proteine keine konstante Größe. So zeigen die Eiweißkörper in konzentrierter Harnstofflösung ein niedrigeres Molekulargewicht als in Wasser, verdünnten Säuren und Alkalien oder verdünnten Salzlösungen *(Burk* und *Greenberg, The Svedberg)*. Diese Fähigkeit kommt auch Eiweißkörpern selbst zu. So zerfallen Serumalbumin, Eieralbumin und Lactoglobulin unter dem Einfluß von Clupein in kleinere Moleküle *(The Svedberg)*. Dieselbe Einwirkung scheinen die Serumeiweißkörper aufeinander zu haben. *MacFarlane* bestimmte das Molekulargewicht der Serumproteine nach Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung und im unveränderten Serum. In letzterem bestand nach der Bestimmung mit der Ultrazentrifuge das Eiweiß zum größten Teil aus Albuminen, in ersterem fand er die Verhältnisse wie nach Trennung mit Natriumsulfat. Es scheinen also die Globuline im natürlichen Serum unter dem Einfluß der Albumine desaggregiert zu sein. In diesem Sinn sprechen auch die Untersuchungen *Hardys*. Filtriert er Serum durch porösen Ton, so findet er fast das ganze Eiweiß im Filtrat. Verdünnt er aber vorher mit Wasser, Salzlösungen, Säuren und Basen, so bleibt ein beträchtlicher Teil des Eiweißes auf dem Filter zurück. Aus der Erfahrung der günstigen Flockungsbereitschaft bei dieser Verdünnung wählen *Takata* und *Dohmoto* bei Ermittlung der „Flockungszahl" eine Verdünnung des Serums 1:50. Es scheint also die Schutzwirkung der Albumine auf die Globuline bei dieser Verdünnung weitgehend aufgehoben zu sein, so daß letztere nach Aufhebung der Desaggregation leichter ausfallen können. Dies wird um so eher geschehen, je mehr davon vorhanden sind und je gröber dispers dieselben beschaffen sind, um so schwerer aber, je mehr Albumine im Serum enthalten sind.

Sehr viel Eiweißstoffe gehen beim Erhitzen vom Sol- in den Gelzustand über. Welches sind die Vorgänge bei dieser Reaktion? Nach *Seelich* tritt als 1. Phase der Hitzedenaturierung eine Zunahme der Hydratation ein, der sekundär eine Abnahme derselben folgt. Als Ursache der Hydratationssteigerung müsse eine Aufspaltung von Bindungen im Proteinmolekül angenommen werden, als Ursache der Hydratationsabnahme das Entstehen einer neuen stabileren Bindungsform von niedrigerem Energiegehalt. Darüber herrscht Einigkeit, daß beim Denaturierungs- und Koagulationsvorgang durch Erhitzen sehr enge Zusammenhänge mit dem Hydratationswasser, also der umgebenden Wasserhülle des Moleküls bestehen. Zum gleichen Ergebnis kommt *Rondoni,* der weiter findet, daß dieses Verhalten nur den Serumglobulinen eigen ist, während die Albumine mit steigender Temperatur kontinuierlich an Trübung zunehmen, ja sogar schützend gegen diese physikalischen Veränderungen wirken. Sicher wird also beim Erhitzen bis nahe dem Siedepunkt die Wasserhülle weitgehend zerstört. Wenn am Molekül weiter nichts geschehen würde, dann müßte man glauben, daß

beim Erkalten sich diese Hülle wieder herstellt. Das trifft beim Koagulat des KB. nun auf keinen Fall zu. Ist es aber auch der Fall, wenn keine Ausfällung stattgefunden hat, wie es z. B. bei einer Serumverdünnung mit destilliertem Wasser 1:50 ist, wobei nach *Weltmann* und *Medvei* normalerweise in der Siedehitze keine Hitzekoagulation eintritt? Wie oben erwähnt, tritt diese aber sofort ein, wenn ein Tropfen einer 10%igen Calciumchloridlösung zu dem erhitzten, verdünnten Serum zugegeben wird. Läßt man aber die wässerige Serumverdünnung nach dem Erhitzen abkühlen und setzt dann den Tropfen Calciumchlorid zu, so bleibt die Lösung klar.

Damit berühren wir schon eine Veränderung, die durch Punkt 3 unserer Überlegung: Zugabe des Elektrolyts Calciumchlorid, hervorgerufen werden kann. *Haurowitz* rechnet die Albumine und Globuline zu den Sphäroproteinen, die von der Kugelform nicht wesentlich abweichen. Man kann zwei Gruppen davon unterscheiden: 1. solche, die in salzfreiem Wasser löslich sind *(Albumintypus)* und an der Oberfläche ihrer Moleküle nur positive, d. h. basische Atomgruppen enthalten und 2. solche, die in salzfreiem Wasser unlöslich sind *(Euglobulintypus)* mit positiven und negativen Exogruppen, also basischen und sauren. Diese können also salzartige Bindungen zwischen benachbarten Molekülen eingehen und zur Aggregation und damit zum Ausfallen der Moleküle führen. Proteine, die nur negative, also nur saure Exogruppen enthalten, sind bisher nicht nachgewiesen worden.

Da die Solstabilität von der elektrischen Ladung und der Wasserhülle abhängt, gibt es zwei Möglichkeiten: 1. wenn durch das Erhitzen die Wasserhülle zerstört ist, dann muß Ionenzugabe eine Ausfällung bewirken. Da dies nicht der Fall ist, müßte man wieder eine Rückbildung der Wasserhülle annehmen, da diese ja der Ausflockung weitgehend entgegenwirkt.

2. Wir denken aber noch an einen weiteren Vorgang beim Erhitzen. Ist es vielleicht nicht so, daß sich die ladungsgleichen Gruppen im Moleküle gleichstellen, so daß negative Gruppen mehr nach außen treten und positive mehr nach innen. Wir erinnern uns dabei an die Ausführungen *Thiessens* über die Kolloide, wonach nach Salzzugabe eine steile Aufrichtung der Anordnung erfolgt, so daß alle negativen Ladungen nach einer Richtung und die positiven nach der anderen zeigen. Bei Ionenveränderungen kann eine Umkehr erfolgen. Es kämen also Gruppen, die vorher außen waren, mehr ins Innere des Moleküls und solche vom Inneren würden Exogruppen.

Um diesen Fragen näherzukommen, untersuchten wir einmal die beim KB. entstehenden Niederschläge hinsichtlich ihrer qualitativen und quantitativen Zusammensetzung (Tabelle 1).

Zur quantitativen Untersuchung der Niederschläge wurde das KB. mit der doppelten bzw. 4fachen Menge angesetzt. Nach dem Erkalten und Zentrifugieren

Tabelle 1.

Versuch I.

Eiweißgehalt (Refraktometer) im Serum 7,2 g-%.
In 0,4 ccm Serum = 28,8 mg Eiweiß = 4,62 mg Eiweiß-N.
99,14 g $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ in 1000 ccm.

Röhrchen	Eiweiß-N im Röhrchen in mg	Eiweiß-N im Niederschlag in mg	Zugesetztes Gesamt-Ca in mg	Ca im Niederschlag	Verhältnis Ca:N im Niederschlag
I	4,62	4,6	3,63	0,435	1 : 30
II	4,62	4,4	3,27	0,427	1 : 29
III	4,62	3,9	2,909	0,40	1 : 28
IV	4,62	3,8	2,54	0,26	1 : 42
V	4,62	3,7	2,18	0,25	1 : 42
VI	4,62	3,2	1,81	0,24	1 : 38
VII	4,62	2,9	1,45	0,18	1 : 46
VII½	4,62	2,5	1,27	0,13	1 : 55
Endes des Bandes					
VIII	4,62	1,8	1,09	0,17	1 : 30
IX	4,62	1,5	0,72	0,12	1 : 36
X	kein Niederschlag		0,36		

Versuch II.

Eiweißgehalt (Refraktometer) im Serum 8,5 g-%.
In 0,2 ccm Serum = 17 mg Eiweiß = 2,72 mg Eiweiß-N.
99,14 g $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ in 1000 ccm.

Röhrchen	Eiweiß-N im Röhrchen in mg	Eiweiß-N im Niederschlag in mg	Zugesetztes Gesamt-Ca in mg	Ca im Niederschlag	Verhältnis Ca:N im Niederschlag
I	2,72	2,72	1,82	0,196	1 : 40
II	2,72	2,63	1,63	0,152	1 : 50
III	2,72	2,58	1,45	0,138	1 : 54
IV	2,72	2,54	1,27	0,120	1 : 61
V	2,72	2,26	1,09	0,110	1 : 59
VI	2,72	1,98	0,90	0,080	1 : 71
VII	2,72	1,68	0,72	0,067	1 : 72
VIII	2,72	1,32	0,54	0,055	1 : 69

wurde der Niederschlag solange mit destilliertem Wasser gewaschen, bis im Waschwasser die Chlorreaktion negativ war, wozu 6- bis 8maliges Waschen notwendig war. Hernach wurde mit 3 ccm konzentrierter Salzsäure + 3 ccm Wasser 6 Stunden am Rückfluß hydrolysiert und — wir beschreiben den Ansatz mit der doppelten Menge — auf 30 ccm aufgefüllt.

Die Calciumbestimmung erfolgte nach der Bestimmung von *Clark*. 2 ccm wurden im Zentrifugenröhrchen mit 10%igem Ammoniak bis zur schwachsauren Reaktion versetzt und nunmehr 6 ccm gesättigte Ammoniumoxalatlösung zugegeben. Nach 24stündigem Stehen wurde der Niederschlag zentrifugiert, 3mal mit verdünntem Ammoniak gewaschen und nach Zusatz von Schwefelsäure mit n/100 Kaliumpermanganat titriert.

Für die Gesamtstickstoffbestimmung wurden 5 ccm Lösung genommen und kjeldahlisiert. Die Umrechnung auf Eiweiß erfolgte wie üblich durch Multiplikation mit 6,25. Sowohl bei den Calcium- als auch Stickstoffbestimmungen wurden jeweils zur Kontrolle Doppelbestimmungen ausgeführt.

Für die Chlorbestimmung wurden wiederholt Niederschläge mit verdünnter Schwefelsäure im kochenden Wasserbad hydrolysiert, nachher mit Natronlauge neutralisiert und mit Silbernitrat und Salpetersäure versetzt. Wenn gründlich ausgewaschen war, wurde auch nicht eine Spur Chlor gefunden. Zur Kontrolle wurden andere Niederschläge einige Stunden mit verdünnter Salpetersäure unter Silbernitratzusatz im kochenden Wasserbad einige Stunden belassen, ohne daß eine Chlorreaktion eintrat.

Als erste wichtige Tatsache folgt daraus, daß alle gewöhnlich erörterten Möglichkeiten, daß Calciumchlorid in irgendeiner Form in das Eiweißmolekül eintritt, hinfällig sind. Lediglich das Calciumion geht eine Verbindung mit dem Eiweiß ein und, wie man annehmen muß, eine sehr feste, ja wir möchten sagen eine echte Bindung mit demselben. Man kann zwanglos annehmen, daß es mit Carboxylgruppen reagiert, sei es von dem gleichen Molekül oder unter Eiweißmolvergrößerung mit zwei verschiedenen. Es entsteht Calciumalbuminat.

Von der zugesetzten Calciummenge wird nur etwa $^1/_{10}$ zur Ausfällung verwendet, das übrige bleibt in Lösung, wie wir uns durch Calciumkontrollbestimmungen im Filtrat des Koagulates überzeugen konnten. Es ist also stets ein Überschuß für das Eiweiß vorhanden. Wenn trotzdem nicht immer gleich viel Niederschlag entsteht, so muß der Überschuß sonst Verwendung finden, da ja die vorhandene Eiweißmenge stets dieselbe ist. Gewöhnlich sagt man, daß das Salz auch zur Entladung bzw. Umladung der Ladungen des Eiweißmoleküls notwendig wäre. Es würde also eine ganz bestimmte Menge zu diesem Zweck verbraucht und erst das übrigbleibende würde zum Eintritt in das Eiweißmolekül verwendet. Damit wäre der Auffassung Rechnung getragen, daß bei dieser Reaktion gewissermaßen die Elektrolytmenge bestimmt wird, die gerade noch zur Ausfällung reicht, oder nach den vorigen Überlegungen zur Umladung, jede weitere Zugabe bedeutete einen Überschuß an Calcium, das sich dann mit Eiweiß verbinden kann. Folgerichtig könnte man weiter schließen, daß dann im ersten Röhrchen ungefähr die Calciummenge erreicht ist, die notwendig ist, um ein Maximum an Niederschlag zu erhalten. Jede weitere Erhöhung müßte dann wieder Verringerung des Niederschlags bringen, wie ja in der Tat *Kretz* und *Kudlac* nachweisen konnten.

Im ersten Röhrchen fällt auch das gesamte vorhandene Eiweiß aus. Es nimmt dann mit der Calciumchloridverringerung ab, aber nicht etwa so, daß stets das Verhältnis Calcium zu Stickstoff dasselbe wäre. Es scheint das Calcium mit fallender Konzentration mehr Eiweiß zu binden. Das dürfte ein Trugschluß sein. Wir nehmen vielmehr an, daß eine gewisse Calciummenge immer dieselbe Eiweißmenge bindet, und daß das Zuviel an Eiweiß im Niederschlag calciumfreies Eiweiß ist, das mitgerissen wurde. Ein Beweis freilich für diese Behauptung ist wegen der Schwierigkeit des Problems nur schwer anzutreten.

Nach *W. Pauli* sind normalerweise die oberflächlichen, seitenständigen Amino- und Carboxylgruppen durch ihre elektrostatische Hydratation in ihren Affinitäten in gewissem Maße abgesättigt, stabilisiert und dadurch in ihrer wechselseitigen Reaktion, soweit diese sonst räumlich möglich wäre, gehindert. Sobald die Hydratation durch Erwärmung abgenommen hat, werden diese Gruppen unter Neutralisation ihrer elektrischen Ladungsreste untereinander unter Wasseraustritt reagieren. Das Eiweiß ist damit aus seiner hydrophilen Form in die chemisch stabilere hydrophobe Form übergegangen. Haben wir nun in der Hauptsache den Euglobulintypus vor uns, so wird dieser Übergang viel leichter vor sich gehen und negative Gruppen frei werden, die Calcium aufnehmen können. Der Albumintypus wird der Dehydratation großen Widerstand entgegensetzen und, da er an der Oberfläche nur basische Gruppen besitzt, dann trotzdem noch nicht die Möglichkeit haben, Calciumionen aufzunehmen. Allgemein wird also eine Verlängerung des KB. zustande kommen bei Überwiegen des Euglobulintypus und eine Verkürzung beim Überschuß vom Albumintypus, wobei diese Schlußfolgerung auch umgekehrt richtig ist.

Eine Verlängerung des KB. muß sich also weitgehend decken mit positivem Ausfall der TR. Das ist auch der Fall, wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist. In sämtlichen Fällen kann es gar nicht erwartet werden; denn es sind ja doch die Reaktionen ganz verschieden. Der Vergleich zwischen KB. und TR. stellt die Forderung auf, daß es keinen Sinn hat, einer Reaktion vor der anderen den Vorzug zu geben, sondern die Frage lautet einfach so: Welche Serumeißweiveränderungen können wir bei der einzelnen Krankheit feststellen oder, wenn wir die Frage weiter fassen, welche Plasmaeiweißveränderungen werden gefunden? Man wird zur Beantwortung dieser Frage wenigstens die bis jetzt bekannteren Reaktionen heranziehen:

1. Die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (= SG.), 2. die TR., 3. das KB., 4. das direkte Bilirubin, 5. den Albumin-Globulin-Quotienten.

Der Ausfall der SG. hängt in erster Linie nach *Reichel* von den Plasmaeiweißkörpern ab. Eine erhöhte Senkung kann bedingt sein durch Fibrinogenvermehrung allein, oder durch starke Globulinerhöhung allein, oder durch beide zusammen. Bei akuten Krankheitszuständen überwiegt meist die Fibrinogenvermehrung, bei chronischen tritt die Globulinzunahme und Anämie stark hervor, wobei eine Fibrinogenvermehrung fehlen kann. Ganz allgemein sind toxische Stoffe vorhanden, die diese Eiweißverschiebung auslösen.

Positive Takatareaktion haben wir bei absoluter Vermehrung der Globuline und Verringerung der Albumine oder bei Vermehrung der gröber dispersen Anteile der Globulinfraktion. Vorwiegend Erkrankungen der Organe, die mit dem Eiweißumbau zu tun haben, sind hier für die

Veränderungen des Eiweißanteils im Serum verantwortlich, jedoch auch zum Teil toxische Körper, die diese Veränderungen verursachen.

Verlängertes KB. geht vielfach mit der TR. parallel. Die Gründe für die Verlängerung des Bandes sind wohl die gleichen wie für ein Positivwerden der TR. Verkürztes KB. müßte also eine Vermehrung der Stoffe bedeuten, die es verhindern, daß Koagulation eintritt, also Vermehrung der Albumine.

Direktes Bilirubin haben wir bei geringerer Haftfestigkeit an die Albumine, also bei Veränderungen im Bau derselben. Es zeigt uns also wiederum an, daß gegen die Norm verändertes Serumeiweiß und vor allem Albuminveränderungen vorhanden sind, daß also wieder die eiweißumbauenden Organe in Mitleidenschaft gezogen sing.

Der Albumin-Globulin-Quotient liegt normalerweise um 2. Er ist selten darüber, häufig verringert und ein klinisch wichtiges Symptom bei Nierenerkrankungen wie Nephritis und anhaltender Albuminurie. Hier steht eine Verringerung des Albumins im Vordergrund, doch kann sich das normale Verhältnis auch verschieben bei Vermehrung der Globuline und somit bei allen Erkrankungen, die eine solche im Gefolge haben.

Auf Grund dieser Überlegungen verglichen wir also bei verschiedenen Krankheiten, KB., TR., SG. und direktes Bilirubin (Tabelle 2).

Alle Untersucher sind sich einig, daß der Ausfall des KB. von den Serumeiweißkörpern abhängig ist. Es lag auf der Hand, daß zum Vergleich schon wiederholt andere Reaktionen herangezogen wurden. Es seien nur die Arbeiten von *Skouge* und besonders die von *Rosegger* erwähnt. Sie kommen zu der Anschauung, daß bei Lebererkrankungen sich beide Reaktionen wertvoll ergänzen können.

Vergleicht man beide nach dem Schrifttum bei den einzelnen Erkrankungen, so sieht man verlängertes KB. bei Lebercirrhose, akuter gelber Leberatrophie, bei Ikterus mit Parenchymschädigung, bei Herz- und Gefäßerkrankungen (mit Beteiligung der Leber), bei hämolytischem Ikterus, Perniciosa, Malaria (also bei erhöhtem Blutzerfall), bei Schrumpfniere und chronischen Nephritiden, also kurz fast überall da, wo auch die TR. positiv ist. Extremste Verkürzung soll bei Pneumonien vorkommen, etwas geringeren Grades bei exsudativ entzündlichen Prozessen wie akuter Polyarthritis, Eiterungen und sonstigen einschmelzenden Prozessen, meist auch bei Sepsis, wobei plötzliche Verlängerung als ominöses Zeichen zu werten sei. Weiterhin soll eine Verkürzung bestehen, wenn im Körper Eiweiß abgebaut wird, so bei malignen Tumoren, während gutartige normales KB. zeigen sollen. Verkürzung sieht man auch bei Nierenerkrankungen, besonders mit nephrotischem Einschlag (am stärksten bei Amyloidniere), manchmal auch bei akuter Nephritis (akuter diffuser Glomerulonephritis). Bei einem KB. unter 5 R wurde nie eine positive TR. gefunden.

Vergleiche zwischen dem KB. und der SG. namentlich bei Tuberkulose finden sich in mehreren Arbeiten. Nach *Weltmann* und *Paula* ergänzen sich die beiden Reaktionen sehr gut, da sie über völlig verschiedene Qualitäten der veränderten Blutflüssigkeit unterrichten. Deshalb will das KB. die SG. auch nicht ersetzen. Die SG. wird in der Klinik der Lungentuberkulose immer ihre Stellung behalten. *Makitra* und *Tyndel* hoben den diagnostischen Wert des KB. der SG. gegenüber gerade

Tabelle 2.

Nr.	Klinische Diagnose	KB.	TR.	SG.	Bilirubin		Anmerkung
			KB. normal				
1	Gastritis	6 R	—	10/17	—	0,78	
2	Herzinsuffizienz	6 R	(+)	50/88	(+)	0,51	
3	Glomerulonephritis	6 R	++	73/110	—	0,23	
4	CO-Vergiftung	6 R	—		—	0,25	
5	Magencarcinom	6 R	—		—	0,30	
6	Glomerulonephritis	6 R	+		(+)	1,25	
7	Hypertonie	6 R	—	11/35	—	0,52	
8	Nephrosklerose	6 R	—				
9	Myodegeneratio	6 R	—	27/50	—	0,25	
10	Herzinsuffizienz	6 R	++	30/57	—	0,30	Stauungsleber + Stauungsbronchitis
11	Aortenaneurysma	6 R	—	13/24	—	0,50	
12	Marasmus	6 R	—	70/98	—	0,29	Arteriosklerose + Cystitis
13	Myodegeneratio	6 R	—	5/11	—	0,26	
14	Nephrosklerose	6 R	—	50/80			Urämie
15	Herzinsuffizienz	7 R	—	3/9	—	0,43	
16	Herzinsuffizienz	7 R	—	16/38	(+)	0,61	
17	Myodegeneratio	7 R	(+)	6/15	(+)	0,95	
18	Herzinsuffizienz	7 R	+	18/32	—	0,29	Stauungsleber
19	Nephrosklerose	7 R	—	75/110	—	0,45	Urämie
20	Cerebralsklerose	7 R	—	37/60	—	0,49	
21	Herzinsuffizienz	7 R	—	25/50	—	0,25	
22	Tabes dorsalis	7 R	—	20/49	—	0,30	
23	Apoplexie	7 R	—				
24	Nephrosklerose	7 R	—	14/30	—	0,50	
			KB. verlängert				
25	Schrumpfniere	$7^1/_2$ R	—	65/120	—	0,51	
26	Choledochusstein	$7^1/_2$ R	—	11/20	—	0,30	
27a	Icterus simplex	$7^1/_2$ R	+	11/33	+	4,6	2. 3.
b	Icterus simplex	$7^1/_2$ R	+(+)	43/62	+	4,2	11. 3.
28	Perniciöse Anämie	$7^1/_2$ R	—	10/25	(+)	0,60	
29a	Myodegeneratio	$7^1/_2$ R	+++	20/35		0,37	5. 4. Weitgehende
b	Myodegeneratio	$7^1/_2$ R	+++	75/90	—	0,20	10. 4. Dekompensation
30	Icterus simplex	8 R	+(+)	14/35	(+)	0,61	Stauungsleber
31a	Schrumpfniere	8 R	—	110/130	—	0,23	3. 3.
b	Schrumpfniere	7 R	+	105/135			10. 3. Urämie
32	Lebertumor	8 R	++	63/95	—	0,25	
34	Herzinsuffizienz	8 R	++	46/100	(+)	0,60	Stauungsfettleber
35a	Lebercirrhose	9 R	+++	43/62	(+)	0,72	24. 2.
b	Lebercirrhose	9 R	+++	26/50	(+)	1,05	5. 3.
c	Lebercirrhose	9 R	+		+	0,93	6. 7.
			KB. verkürzt				
36	Grippe, Bronchitis	5 R	—	72/104	—	0,24	
37	Subakute Nephritis	5 R	—	20/40	—	0,2	Zustand nach Apoplexie
38	Angina pectoris	5 R	—	13/24	—	0,2	
39	Hypertonie	5 R	—	65/94	—	0,25	
40	Lungentuberkulose	4 R	—	84/119	—	0,25	Vorwiegend exsudativ kavernös
41	Lymphdrüsencarcinom	4 R	-	42/55	—	0,43	Progredienter Verlauf
42	Akute Polyarthritis	4 R	—	5/11	—	0,30	
43	Pyelitis	4 R	—	58/90	—	0,28	

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Nr.	Klinische Diagnose	KB.	TR.	SG.	Bilirubin		Anmerkung
44	Coronarsklerose	4 R	—	18/40	—	0,25	
45	Cholecystitis	4 R	—	105/122	+	1,74	Ikterus
46	Cystopyelitis	4 R	—	54/105	—	0,18	
47	Glomerulonephritis . .	4 R	—	7/17	—	0,37	Zustand nach Apoplexi
48	Cystitis, Bronchitis . .	3 R	—	28/57	—	0,18	
49	Myokarditis	3 R	—	13/35	—	0,29	Perikarditis
50	Biliöse Pneumonie . .	2 R	—	15/35	—	0,3	
51	Bronchopneumonie . .	0 R	—	78/115	—	0,25	Zustand nach Apoplexi

bei den symptomarmen Frühfällen hervor, während bei chronischer Tuberkulose das KB. großen prognostischen Wert besitze. *Roháčová* und *Weichherz, Kretz* und *Kudlac, Dissmann* fanden, daß der klinische Wert des KB. jenen der Senkung bei Lungentuberkulose übertreffe, während *Ekhart* diese Meinung nicht teilt. Jedenfalls geben beide Reaktionen zusammen einen besseren Aufschluß über die Krankheit als jede von ihnen allein, da es scheint, daß sich im KB. mehr das pathologisch-anatomische Bild des Krankheitsprozesses spiegele, in der SG. hingegen dessen Aktivität. Eine Parallelität zwischen KB. und SG. wurde nicht festgestellt, da beide Reaktionen offensichtlich eine völlig verschiedene Grundlage haben und die krankhaften Veränderungen im Blute von ganz verschiedenen Seiten her beleuchten. Nur *Purper* konnte einen gewissen Parallelismus zwischen KB. und SG. feststellen, wenn er an Hand eines größeren Untersuchungsmaterials die KB.-Werte mit den Mittelwerten der bei den einzelnen KB.-Werten gefundenen Senkungswerten verglich und umgekehrt für die einzelnen Senkungswerte die entsprechenden mittleren KB.-Werte errechnete.

Bei normalem KB. (6—7 R) fanden wir in 24 Fällen je zwei schwach positive, positive und stark positive TR. Die SG. war fast nie normal und man sieht, wie überaus empfindlich diese Reaktion ist und bei den meisten inneren Erkrankungen anspricht. Auf jeden Fall ist daraus ersichtlich, daß die meisten Krankheiten auch mit irgendwelchen Veränderungen und Inanspruchnahme der Bluteiweißkörper einhergehen. Ein deutlicher Zusammenhang mit dem KB. ist keinesfalls festzustellen, und es gelten auch hier die Ausführungen, die wir in einer früheren Arbeit *(Dirr* und *Mayer)* machten, daß hier ein Faktor fehlt, der eine wesentliche Rolle beim Zustandekommen der SG. spielt, nämlich das Fibrinogen. Direktes Bilirubin spricht für eine Leberschädigung. Beispiel 6 ist sicher nicht als Gegenbeweis zu werten, da hier zweifellos neben der Globerulonephritis auch eine Leberschädigung vorlag. Schon der hohe Bilirubinwert ist ein Zeichen dafür. Von den 24 Fällen sahen wir 4mal eine verzögerte, schwach positive direkte Bilirubinreaktion, 3mal fiel sie zusammen mit einer positiven TR., wobei wir nochmal betonen, daß für uns schon eine Flockung in irgendeinem Röhrchen (+) anzeigt, wie wir in den erwähnten früheren Arbeiten ausführten.

Ganz anders liegen die Verhältnisse beim verlängerten KB. In den 10 Fällen davon ist die TR. nur 3mal negativ, wobei wir nicht zweifeln, daß bei wiederholter Untersuchung auch diese noch positiv geworden wären, da es sich durchwegs um Krankheiten handelt, bei denen oft eine *Takata*-Ausflockung gefunden wird. Aus diesen Ergebnissen sieht man

deutlich, daß verlängertes KB. und positive TR. häufig zusammenfallen und daher auch verwandte Ursachen dafür im Serumeiweiß zu suchen sind. Wenn auch die SG. hier im allgemeinen höhere Werte zeigt, so wird doch ein deutliches Parallelgehen durchwegs vermißt. 5mal, also bei einem ziemlich hohen Hundertsatz, ist die direkte Probe auf Bilirubin positiv. Das weist darauf hin, daß in vielen Fällen die Serumeiweißveränderungen mit einem Leberschaden einhergehen und somit diejenigen ein Positivum für sich buchen können, die den Hauptort des Eiweißumbaus in die Leber verlegen.

Das verkürzte KB. ist der Befund bei dieser Reaktion, der eine Besonderheit darstellt. Hier liegt auch der Hauptwert des KB., wobei wir bis jetzt keinen Ersatz dafür kennen. Wir haben oft versucht, so etwas Ähnliches auch bei der TR. herauszulesen, da bei negativer TR. doch noch einige Unterschiede zu finden sind, wie leichte Trübung in 4, 3, 2, 1 oder 0-Röhrchen, doch gelingt hier nicht ein Fingerzeig auf eine Krankheit oder eine pathologisch-anatomische Besonderheit. Bei einem verkürzten KB. fehlt durchwegs eine positive TR. Das würde übereinstimmen mit unserer oben gemachten Anschauung, daß hier die Schutzkolloide überwiegen, die die Ausflockung verhindern, also die Albumine. Leider haben wir für diese Anschauung nicht selbst den Beweis erbringen können, da wir den Albumin-Globulin-Quotienten nicht bestimmten, weshalb wir die Behauptung mit einem gewissen Vorbehalt aufstellen wollen. Doch möchten wir ausdrücklich in diesem Zusammenhang darauf hinweisen, daß längere Zeit stehendes Serum eine immer mehr zunehmende Verlängerung des KB. zeigt. Wir erblicken einen indirekten Beweis darin für unsere Annahmen; denn das Hydratationswasser verschwindet dabei immer mehr, vielleicht durch Umlagerung der polaren Gruppen, und die Albumine könnten dabei immer mehr den Charakter der Globuline annehmen. Dieser Befund ist zugleich ein Beitrag zum Kapitel „Altern des Eiweißes". Die SG. geht auch hier ihre eigenen Wege und zeigt wieder mit größter Deutlichkeit, wie diese Reaktion auf kleine Blut iweißveränderungen anspricht. Direktes Bilirubin war nur in einem Fall zu beobachten. Im ganzen sieht es doch so aus, als ob ein Leberschaden parenchymatöser Art beim verkürzten KB ausgeschlossen wäre.

Weltmann und *Medvei* dürften also wohl zu Recht behaupten, daß exsudativ entzündliche Prozesse sich in einer Verkürzung des KB. widerspiegeln, während fibröse Prozesse und Leberzellschädigung zu einer Verlängerung des KB. führen. Diese Gesetzmäßigkeit gilt besonders bei Lungenerkrankungen und ist am offenkundigsten bei Pneumonie. Während für ein verlängertes KB. im allgemeinen die TR. hinreichend Ersatz ist, erblicken wir, wie gesagt, in einem verkürzten die Sonderstellung desselben und halten es deshalb für zweckmäßig, bei Erkrankungen des Respirationstrakts auch die *Weltmann*sche Reaktion anzustellen.

Es ist merkwürdig, daß bei TR. und KB. auch Nierenerkrankungen miterfaßt werden, obwohl bis heute keine besonderen Anhaltspunkte dafür gefunden wurden, daß sich die Niere in größerem Maßstabe am Umbau des Serumeiweißes beteilige. Auf jeden Fall können wir aber sagen, daß das Serumeiweiß bei solchen positiven Fällen nicht normal sein kann. Man denkt unwillkürlich an ein hepatorenales Syndrom, doch lassen sich klinisch und pathologisch-anatomisch fast keine Beweise dafür finden und der Ausdruck im Schrifttum ist mehr als eine Sucht nach einer Nachahmung des hepatolinealen Systems zu werten, das jedoch seine volle Berechtigung hat. Bei Nierenerkrankungen, die mit einem Eiweißverlust einhergehen, ist ja eine Erklärung möglich, da vielleicht das kleinere Albuminmolekül leichter das geschädigte Nierenfilter passiert und so im Serumeiweiß eine relative Vermehrung der Globuline eintritt. Doch sollen bei Nierenerkrankungen oft auch Verkürzungen des KB. zu beobachten sein, wofür eine letzte Erklärung fehlt.

Ähnlich wie bei unseren Untersuchungen zum Mechanismus der TR. versuchten wir auch zu erforschen, welche Atomgruppen verlängernd oder verkürzend auf das KB. wirken. Aus Raumersparnis verzichten wir auf Wiedergabe der einzelnen Versuche. Sie wurden ausgeführt wie in den erwähnten Arbeiten über den Mechanismus der TR. Ganz allgemein ergab sich die Tendenz, daß Amino- und verwandte Gruppen verlängernd wirken, COOH-Gruppen verkürzend. Da nach *Haurowitz* die Exogruppen des Albumintypus basische Atomgruppen sind, müßten wir für das Altern ein immer mehr fortschreitendes Hineinwandern derselben in das Innere und ein Hinaustreten der sauren Gruppen an die Oberfläche annehmen.

Das eine ist sicher: Auch für den Ausfall des KB. sind chemisch konstitutive Änderungen im Eiweißmolekül, besonders in dessen polaren Gruppen, maßgebend. Wenn wir auch im Zusammenhang damit keine Bausteinanalysen wie bei takatapositiven Seren durchgeführt haben, so dürften wir doch auch hier Änderungen im Bausteingehalt erwarten bei verschiedenem Ausfall der Reaktion.

Bei allen Erscheinungen des Lebens spielt das Eiweiß eine überragende Rolle. Seine mannigfache Erscheinungsform, besonders auch in Bluteiweißkörpern, bedingt seine vielseitige Tätigkeit. Eine Störung im Aufbau desselben ist der heute noch vielfach unerkannte Grund für viele Krankheitserscheinungen, und für den Nichtfachmann haben die unerwarteten richtungweisenden Ergebnisse *Kögls* das ganze Problem wie ein Blitz grell beleuchtet, da dieser Forscher bei der Hydrolyse von Krebsgeweben fand, daß beim Aufbau derselben die rechts konfigurierte Glutaminsäure statt des natürlichen Antipoden vorwiegend beteiligt ist. Dies stellt schon eine ganz massive Veränderung dieses Eiweißes gegenüber normalem dar. Bei fortschreitenden Verbesserungen der chemischen und physikalischen Methoden werden wir noch viele Veränderungen geringeren Grades bei fast sämtlichen Krankheiten finden,

ohne daß es einen so hochgradigen Eingriff in den normalen Ablauf der Körperreaktionen darstellt, wie es beim Krebs der Fall ist.

Zusammenfassung.

1. Verlängertes KB. und positive TR. laufen weitgehend parallel bei den einzelnen Erkrankungen und dürften deshalb auch auf der gleichen Grundlage beruhen, nämlich einem Übergewicht des Globulintypus der Serumproteine.

2. Verkürztes KB. dürfte dementsprechend auf dem Haupteinfluß des Albumintypus beruhen und kann deshalb nicht mit der TR. verglichen werden, da hier schon theoretisch eine negative TR. zu erwarten ist.

3. Verlängertes KB., positive TR. und direktes Bilirubin treffen bei Leberschädigung oft zusammen.

4. Die SG. stellt eine außerordentlich empfindliche Reaktion dar. Obwohl ihr positiver Ausfall oft mit einer Globulinvermehrung zusammenhängt, können doch keine so ausgesprochenen Beziehungen zu KB., TR. und direktem Bilirubin erkannt werden, da der Grund einer beschleunigten Senkung ebenso oft durch ein vermehrtes Fibrinogen bedingt ist, das für die anderen Reaktionen ohne Bedeutung ist.

5. Ähnlich wie bei der TR. im Niederschlag nur Hg bzw. HgO gefunden wird und kein Chlor, tritt beim KB. nur Calcium in das Molekül ein und ebenfalls kein Chlor. Gleichsam als höchstmögliche Calciummenge, die bei dieser Reaktion aufgenommen werden kann, fanden wir 1Ca:30N. Bei stärkeren Calciumchloridverdünnungen wird ein Teil des Nichtcalciumeiweißes offenbar mitgerissen und so das Verhältnis Ca:N bis 1:70 verschoben.

Schrifttum.

Burk, N. F. and *D. M. Greenberg:* J. of biol. Chem. (Amer.) **87**, 197 (1937). — *Dirr, K.:* Z. exper. Med. **104**, 328 (1938). — Klin. Wschr. **1939 I**, 91. — *Dirr, K.* u. *K. Mayer:* Z. exper. Med. **104**, 310 (1938). — *Dirr, K.* u. *M. Platiel:* Z. exper. Med. **104**, 292 (1938). — *Dirr, K.* u. *N. Sereslis:* Z. exper. Med. **104**, 337 (1938). — *Dissmann:* Beitr. Klin. Tbk. **84**, 270 (1934). — *Ekhart:* Med. Klin. **1931 I**, 772. — *Hardy, W. B.:* J. Physiol. et Path. gén. **33**, 251 (1905). — *Haurowitz, F.:* Z. physiol. Chem. **256**, 28 (1938). — *Hoefft, v.:* Verh. Ges. dtsch. Naturforsch. **2**, 992 (1913). — *Kögl, F.* u. *H. Erxleben:* Z. physiol. Chem. **258**, 57 (1939). — *Kretz* u. *Kudlac:* Z. klin. Med. **127**, 590 (1935). — *MacFarlane, A. S.:* Biochemic. J. (Brit.) **29**, 407 (1935). — *Makitra* u. *Tyndel:* Beitr. Klin. Tbk. **84**, 265 (1934). — *Mayer* u. *Rosenow:* Klin. Wschr. **1922 II**, 1694. — *Pauli, W.:* Klin. Wschr. **1929 I**, 673. — *Purper:* Münch. med. Wschr. **1935 II**, 1124. — *Reichel, H.:* Blutkörperchensenkung. Wien: Julius Springer 1936. — *Rondoni, P.:* Z. physiol. Chem. **254**, 207 (1938). — *Rosegger, H.:* Med. Welt **1937 I**, 384. — Z. klin. Med. **134**, 495 (1938). — *Rohácová* u. *Weichherz:* Med. Klin. **1933 II**, 1410. — *Seelich, F.:* Chemie und Physiologie des Eiweißes, S. 25. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1938. — *Skouge, E.:* Klin. Wschr. **1933 I**, 905. — *Takata* and *Tohmoto:* Tohoku J. exper. Med. **28**, 522 (1935). — *The Svedberg:* Chem. Rev. **20**, 81 (1936). — Nature (Lond.), Suppl. **139**, 1051 (1937). — *Thiessen:* Vortrag Münch. chem. Ges. 1939. — *Weltmann, O.:* Med. Klin. **1930 I**, 240. — Wien. klin. Wschr. **1930 II**, 1301. — *Weltmann* u. *Medvei:* Z. klin. Med. **118**, 670 (1931). — *Weltmann* u. *Paula:* Z. klin. Med. **118**, 644 (1931).

Lebenslauf.

Ich wurde am 22. Dezember 1914 in Schöndorf im heutigen rumänischen Banat als Sohn deutscher Eltern geboren. In Temeswar besuchte ich das deutsche staatliche Realgymnasium, um daselbst im Juli 1931 das rumänische Reifezeugnis zu erwerben. Mein medizinisches Universitätsstudium begann ich in Klausenburg (Rumänien). Nach zwei Semestern setzte ich mein Studium an der Universität Münster in Westfalen fort, wo ich Sommer 1934 auch das Physikum bestand. Die klinischen Semester verbrachte ich an den Universitäten Freiburg i. Br. und München. Im Herbst 1937 legte ich an der Universität München das medizinische Staatsexamen ab.